

Die Eignung einiger Methämoglobinbestimmungsmethoden für Überwachungsuntersuchungen

von

Johanna Eschstruth

aus

Neuötting am Inn



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548610_0052

Aus dem Institut für Arbeits- und Sozial-Medizin
und der Poliklinik für Berufskrankheiten
der Universität Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Professor Dr. med. H.Valentin)

Die Eignung einiger Methämoglobinbestimmungsmethoden für Überwachungsuntersuchungen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt

von

Johanna Eschstruth

aus

Neuötting am Inn

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät der Universität

Erlangen - Nürnberg

Aus dem Institut für
und der Fakultät für
der Universität Erlangen-Nürnberg
(Dissertation Professor Dr. med. H. Valentin)

Die Eignung einiger Methoden zur Bestimmung für Überwachungsuntersuchungen

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades
des hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Wilhelms-Universität
zu Bonn



Dekan: Professor Dr. med. Dr. phil. nat. H. Pauly

Referent: Professor Dr. med. H. Valentin

Tag der mündlichen Prüfung: 24. Oktober 1972

I.	Einleitung	1
II.	Die Entstehung der Kunst	2
III.	Die Entwicklung der Kunst	3
IV.	Die Kunst der Gegenwart	4
V.	Die Kunst der Zukunft	5
VI.	Die Kunst der Vergangenheit	6
VII.	Die Kunst der Gegenwart	7
VIII.	Die Kunst der Zukunft	8
IX.	Die Kunst der Vergangenheit	9
X.	Die Kunst der Gegenwart	10
XI.	Die Kunst der Zukunft	11
XII.	Die Kunst der Vergangenheit	12
XIII.	Die Kunst der Gegenwart	13
XIV.	Die Kunst der Zukunft	14
XV.	Die Kunst der Vergangenheit	15
XVI.	Die Kunst der Gegenwart	16
XVII.	Die Kunst der Zukunft	17
XVIII.	Die Kunst der Vergangenheit	18
XIX.	Die Kunst der Gegenwart	19
XX.	Die Kunst der Zukunft	20
XXI.	Die Kunst der Vergangenheit	21
XXII.	Die Kunst der Gegenwart	22
XXIII.	Die Kunst der Zukunft	23
XXIV.	Die Kunst der Vergangenheit	24
XXV.	Die Kunst der Gegenwart	25
XXVI.	Die Kunst der Zukunft	26
XXVII.	Die Kunst der Vergangenheit	27
XXVIII.	Die Kunst der Gegenwart	28
XXIX.	Die Kunst der Zukunft	29
XXX.	Die Kunst der Vergangenheit	30
XXXI.	Die Kunst der Gegenwart	31
XXXII.	Die Kunst der Zukunft	32
XXXIII.	Die Kunst der Vergangenheit	33
XXXIV.	Die Kunst der Gegenwart	34
XXXV.	Die Kunst der Zukunft	35
XXXVI.	Die Kunst der Vergangenheit	36
XXXVII.	Die Kunst der Gegenwart	37
XXXVIII.	Die Kunst der Zukunft	38
XXXIX.	Die Kunst der Vergangenheit	39
XL.	Die Kunst der Gegenwart	40
XLI.	Die Kunst der Zukunft	41
XLII.	Die Kunst der Vergangenheit	42
XLIII.	Die Kunst der Gegenwart	43
XLIV.	Die Kunst der Zukunft	44
XLV.	Die Kunst der Vergangenheit	45
XLVI.	Die Kunst der Gegenwart	46
XLVII.	Die Kunst der Zukunft	47
XLVIII.	Die Kunst der Vergangenheit	48
XLIX.	Die Kunst der Gegenwart	49
L.	Die Kunst der Zukunft	50
LI.	Die Kunst der Vergangenheit	51
LII.	Die Kunst der Gegenwart	52
LIII.	Die Kunst der Zukunft	53
LIV.	Die Kunst der Vergangenheit	54
LV.	Die Kunst der Gegenwart	55
LVI.	Die Kunst der Zukunft	56
LVII.	Die Kunst der Vergangenheit	57
LVIII.	Die Kunst der Gegenwart	58
LIX.	Die Kunst der Zukunft	59
LX.	Die Kunst der Vergangenheit	60
LXI.	Die Kunst der Gegenwart	61
LXII.	Die Kunst der Zukunft	62
LXIII.	Die Kunst der Vergangenheit	63
LXIV.	Die Kunst der Gegenwart	64
LXV.	Die Kunst der Zukunft	65
LXVI.	Die Kunst der Vergangenheit	66
LXVII.	Die Kunst der Gegenwart	67
LXVIII.	Die Kunst der Zukunft	68
LXIX.	Die Kunst der Vergangenheit	69
LXX.	Die Kunst der Gegenwart	70
LXXI.	Die Kunst der Zukunft	71
LXXII.	Die Kunst der Vergangenheit	72
LXXIII.	Die Kunst der Gegenwart	73
LXXIV.	Die Kunst der Zukunft	74
LXXV.	Die Kunst der Vergangenheit	75
LXXVI.	Die Kunst der Gegenwart	76
LXXVII.	Die Kunst der Zukunft	77
LXXVIII.	Die Kunst der Vergangenheit	78
LXXIX.	Die Kunst der Gegenwart	79
LXXX.	Die Kunst der Zukunft	80
LXXXI.	Die Kunst der Vergangenheit	81
LXXXII.	Die Kunst der Gegenwart	82
LXXXIII.	Die Kunst der Zukunft	83
LXXXIV.	Die Kunst der Vergangenheit	84
LXXXV.	Die Kunst der Gegenwart	85
LXXXVI.	Die Kunst der Zukunft	86
LXXXVII.	Die Kunst der Vergangenheit	87
LXXXVIII.	Die Kunst der Gegenwart	88
LXXXIX.	Die Kunst der Zukunft	89
LXXXX.	Die Kunst der Vergangenheit	90
LXXXXI.	Die Kunst der Gegenwart	91
LXXXXII.	Die Kunst der Zukunft	92
LXXXXIII.	Die Kunst der Vergangenheit	93
LXXXXIV.	Die Kunst der Gegenwart	94
LXXXXV.	Die Kunst der Zukunft	95
LXXXXVI.	Die Kunst der Vergangenheit	96
LXXXXVII.	Die Kunst der Gegenwart	97
LXXXXVIII.	Die Kunst der Zukunft	98
LXXXXIX.	Die Kunst der Vergangenheit	99
LXXXXX.	Die Kunst der Gegenwart	100

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. Einleitung	1
2. Methämoglobinbildende Substanzen	2
3. Wirkungsweise von methämoglobin- bildenden Substanzen	4
4. Verschiedene Methoden zur Bestimmung von Methämoglobin	9
5. Methämoglobinbestimmung nach HEILMEYER [1933]	11
5.1. Prinzip der Methode	11
5.2. Reagenzien	11
5.3. Arbeitsweise	11
5.4. Auswertung	11
5.5. Zuverlässigkeitskriterien	12
5.51 Genauigkeit	12
5.52 Abhängigkeit der Analysenergebnisse von gerin- nungshemmenden Zusätzen der Blutproben	12
5.53 Zeitabhängigkeit	12
5.6. Messungen an einem Normalkollektiv	12
5.7. Messungen an Personen mit Anämien	12
6. Ergebnisse	14
6.1. Genauigkeit	14
6.2. Abhängigkeit der Analysenergebnisse von gerin- nungshemmenden Zusätzen der Blutproben	14

6.21	Fluoridzusatz	14
6.22	Oxalatzusatz	14
6.3.	Zeitabhängigkeit	14
6.31	Fluoridzusatz	14
6.32	Oxalatzusatz	15
6.4.	Q_0 - bzw. Q_{100} - Wert des Normalkollektivs	15
6.5.	Q_0 - bzw. Q_{100} - Wert bei Anämien	15
7.	Methämoglobinbestimmungsmethode nach EVANS u. Mitarb. [1958]	16
7.1.	Prinzip der Methode	16
7.2.	Reagenzien	16
7.3.	Arbeitsweise	16
7.4.	Auswertung	17
7.5.	Zuverlässigkeitskriterien	17
7.6.	Messungen bei einem Normalkollektiv	17
7.7.	Messungen an Personen mit Anämien	17
8.	Ergebnisse	18
8.1.	Genauigkeit	18
8.2.	$\%T_1$ - und $\%T_2$ - Werte des Normalkollektivs	18
8.3.	$\%T_1$ - und $\%T_2$ - Werte der Blutungsanämien	18
8.4.	$\%T_1$ - und $\%T_2$ - Werte der sonstigen Anämien	18
9.	Korrelationsfunktionen und Regressionskoeffizienten	20
9.1.	Anämien	20
9.11	Für Methode nach HEILMEYER [1933]	20

9, 12	Für Methode nach EVANS u. Mitarb. [1958]	20
9, 2.	Normalkollektiv	21
9, 21	Für Methode nach HEILMEYER [1933]	21
9, 22	Für Methode nach EVANS u. Mitarb. [1958]	21
10.	Diskussion	22
11.	Zusammenfassung	25
12.	Literaturverzeichnis	26
13.	Anhang	36

ooOoo

1. EINLEITUNG

Aromatische Amino- und Nitroverbindungen sowie deren Derivate spielen in der heutigen Industrie eine große Rolle. Sie dienen der Synthese von Sprengstoffen und sind gebräuchliche Ausgangsprodukte für die Herstellung von Farben. Außerdem finden sie in der chemischen und pharmazeutischen Industrie Verwendung. Diese aromatischen Amino- (BODANSKY [1951]) und Nitroverbindungen stellen ausgesprochene Hämoglobingifte dar. Aus diesem Grunde ist eine regelmäßige arbeitsmedizinisch-toxikologische Überwachung beruflich Exponierter erforderlich.

Diese Verbindungen sind zumeist starke Methämoglobinbildner. Sie führen durch Angreifen am Porphyrinsystem zu weiteren Oxydationsstufen des Hämoglobins. Verschiedene Vorstufen wurden von JACKSON und TOMPSON [1954] angegeben. Weiterhin zeigten ALLEN und JANDL [1961], daß durch bestimmte Derivate der aromatischen Amino- und Nitroverbindungen außer der Oxydation des Hämoglobins zu irreversiblen Abbauprodukten auch Sulfhämoglobinämie und die Bildung von Heinz'schen Innenkörperchen bewirkt werden.

Stoffe wie Phenacetin, Acetanilide, Paracetamol und einige Sulfonamide zählen ebenfalls zu den Methämoglobinbildnern.

Zur Bestimmung von Methämoglobin sind zahlreiche Methoden angegeben worden. Für eine periodische Überwachung beruflich Exponierter eignen sich aus methodischen Gründen nur wenige Verfahren. In der vorliegenden Arbeit sollen daher einige weniger aufwendige und damit praxisgerechte Methoden auf eine ausreichende analytische Zuverlässigkeit und ihre Praktikabilität geprüft werden.

2. METHÄMOGLOBINBILDENDE SUBSTANZEN

In der folgenden Tabelle werden die bekanntesten methämoglobinbildenden aromatischen Amino- und Nitroverbindungen zusammengefaßt und charakterisiert. Für jede Substanz werden uns bekannte Literaturstellen zitiert.

METHÄMOGLOBINBILDENDE SUBSTANZEN (Amino- und Nitroverbindungen)

Substanz	Verwendung	Resorption	Grad der MHb- Bildungs- potenz	Wichtige Stoffwechsel- produkte	Sonstige toxische Wirkungen	Weitere Nachweise	Literaturhinweise
Di-Nitro- Benzol	Synthese von Farbstoffen u. Celluloid; Sprengstoff- industrie	Haut, Respirations- trakt	+++	Nitrosophe- nylhydroxyl- amin; Mononitro- anilin	Leberschä- digung, temporäre Abblassung; Amblyopie, Zentralsko- tome	allgemein: Hoschek [1964] Koelsch [1918]	Reijsek [1947] Holstein [1961] Hoschek [1964] Koelsch [1918]
Mono- Nitro- Benzol	techn. Löse- mittel i. Le- derlacken als Duftzusatz in Seifen und Parfümen	Haut, Respirations- trakt	+++	p-Amino- phenol (wird sulfa- tiert)	wirkt läh- mend auf Atemzen- trum	Indophenol- reaktion	Moeschlin [1964]
Nitro- phenol	Synthese v. Farbstoff. Abbaupro- dukt eines Insekticides	Haut, Respirations- trakt	++	p-Amino- phenol		Indophenol- reaktion	Waldmann u. Mitarb. [1952]
Benzidin	Synthese v. Farbstoffen und anderen Zwischen- produkten	Haut	+	Mono- und Diacetyl- benzidin	Blasen- tumor	Glassmann u. Mitarb. [1951] Winkler [1959]	Glassmann [1951] u. Mitarb. Goldblatt [1947] Hueper [1948, 1938] Di Maio [1937] Barsotti [1949] Ferguson [1934] Müller [1933] Winkler [1959]

(Forts.) 2. Methämoglobinbildende Substanzen:

Anilin	Synthese von Teerfarbstoffen; Lösungsmittel für Leder- und Stempelfarben. Schädlingsbekämpfungsmittel; Beschleuniger bei Gummierstellung	Haut, seltener: Respirationstrakt; orale Aufnahme	++	p-Aminophenol (wird sulfatiert)	Zerfall der Eiweißkomponenten des Hämoglobins. Heinz'sche Innenkörperchen; Blasenentumoren	Indophenolreaktion. Kuchenbecker [1920] Glassmann u. Mitarb. [1951]	Clark u. Mitarb. [1941, 1942, 1943] Hamblin u. Mitarb. [1926] Cox und Mitarb. [1938] Roche [1930] Ferguson u. Mitarb. [1934] Heubner [1936] Schwedtko [1937] Gley [1937] Gay [1937] Evans [1937] Wolfe [1937] Uehleke [1969]
Chloranilin (p-; m-)	Teerfarbenindustrie	Haut	+		Nieren- und Leberschädigung	sh. Anilin	Lehmann [1933]
Nitroanilin	Synthese v. Farben, Teerfarben u. anderen Zw. produkt.	Haut, Respirationstrakt	+++		Hämolyse; Heinz'sche Innenkörper, Leberschäd.	Hoschek [1964]	Hoschek [1964]
Aminophenol (o-, m-, p)	Farbenindustrie, in Haar- und Pelzfärbemitteln	Respirationstrakt; seltener: Haut	+++		Bronchialasthma, Kontakt-Dermatitis	Hoschek [1964]	Hoschek [1964]

Erläuterungen zu den in den folgenden Abbildungen befindlichen
Abkürzungen

$E \cdot S H$	SH-Enzyme
$G P D H$	Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
$G S H$	Glutathion
$G S \cdot S G$	Glutathion oxydiert
$H b$	Hämoglobin
$L D H$	Lactat-Dehydrogenase
$M H b$	Methämoglobin
$N A D$	Nicotinamid-adenin-dinucleotid
$N A D H_2$	Nicotinamid-adenin-dinucleotid reduziert
$N A D P$	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat
$N A D P H_2$	Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat reduziert

3. WIRKUNGSWEISE VON METHÄMOGLOBIN BILDENDEN SUBSTANZEN

Außer durch toxische Einwirkungen kann eine Methämoglobinämie auch durch erblich bedingte Störungen der Reduktionssysteme verursacht werden. Hierbei liegt ein Fehlen, beziehungsweise eine starke Verringerung des Flavinenzymsystems vor (RAPOPORT [1965]). Methämoglobin zählt jedoch auch zu den physiologischen Bestandteilen des Blutes. Die Normwerte liegen nach HEUBNER u. Mitarb. [1947], und BETKE u. Mitarb. [1952] unter 1 % oder wenig darüber (KÜNZER [1951]). Den Grund für den niedrigen Anteil an Methämoglobin bildet die ständige Reduktion durch Methämoglobinreduktasen, die wiederum mit dem Glucoseabbau in Verbindung stehen. Erhöhter Methämoglobingehalt führt zu erhöhtem Glucoseabbau. Für die Erhaltung des Hämoglobins ist besonders die NAD (Nicotinamid-adenin-dinucleotid) - Reduktase von großer Wichtigkeit.

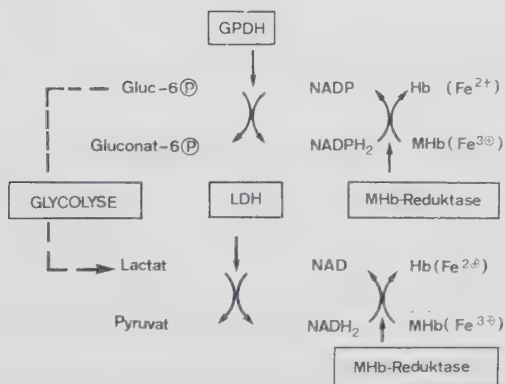


Abb. 1 : Methämoglobinreduktion nach RAPOPORT [1965]

Wie aus Abbildung 1 ersichtlich, ist für die Reduktion von Methämoglobin zu Hämoglobin von großer Bedeutung, daß NADH_2 (reduziertes Nicotinamid-adenin-dinucleotid) in ausreichender Menge vorhanden ist. Die Menge des NADH_2 ist jedoch wiederum von nicht oxydiertem Glutathion (GSH) abhängig. Das oxydierte Glutathion ($\text{G} \cdot \text{S} - \text{S} \cdot \text{G}$) wird nämlich durch die Glutathionreduktasen reduziert, wobei der Wasserstoff (H_2) vom NADPH_2 (Nicotinamid-adenin-dinucleotid-phosphat reduziert) oder NADH_2 (Nicotinamid-adenin-dinucleotid reduziert) stammt.

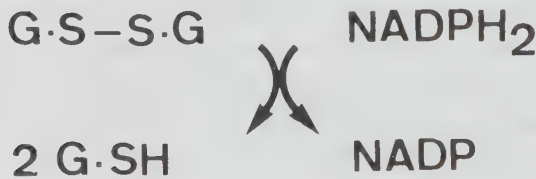


Abb. 2 : Reduktion des oxydierten Glutathions

WAGNER u. Mitarb. [1962] zeigten für Phenylhydrazin und Hydroxylamin, daß diese Substanzen einen Abfall von Glutathion bewirken. Der gemeinsam verursachte Abfall von Glutathion durch diese Metaboliten des Nitrobenzols, beruhend auf dessen Oxydation, wurde von DAVID u. Mitarb. [1965] bei einer schweren Nitrobenzolvergiftung beschrieben (siehe Abb. 3).

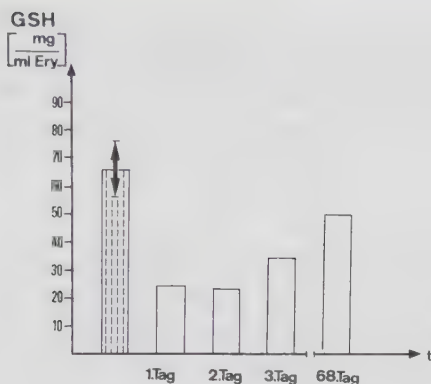


Abb. 3 : Die GSH-Konzentration nach einer schweren Nitrobenzolvergiftung, nach DAVID u. Mitarb. [1965].

Durch die Reduktion des plötzlich vermehrt auftretenden Methämoglobins kommt es zu einem akuten Mangel an nicht oxydiertem Glutathion. Die Aktivität verschiedener SH-Enzyme, welche in bestimmten Stoffwechselsituationen begrenzende Funktion haben, hängt jedoch ebenfalls vom Verhältnis des reduzierten und oxydierten Glutathions ab. Daher kann in der Regulation verschiedener Stoffwechselvorgänge eine Verschiebung erfolgen. Die Auswirkungen des Glutathion-Mangels für den Stoffwechsel sind im einzelnen noch zu untersuchen.



Abb. 4 : SH-Enzyme, durch Oxydation inaktiviert, werden durch GSH aktiviert.

Bei der Umwandlung des Hämoglobins in Methämoglobin handelt es sich um eine oxydative Veränderung des Blutfarbstoffs, die ihren Angriffspunkt an dem im Molekül enthaltenen Eisen hat. Es wird aus der zweiwertigen Ferrostufe in die dreiwertige Ferristufe übergeführt. Das hat den Verlust seiner Fähigkeit, Sauerstoff locker zu binden und zu transportieren, zur Folge.

Läßt man zum Beispiel Anilin oder Nitroanilin, welche zu den stärksten Methämoglobinbildnern zählen, auf den Blutfarbstoff einwirken, so erfolgt momentan überhaupt keine Umsetzung, sondern es dauert längere Zeit - bis zu einem halben Tag - ehe sich Methämoglobin gebildet hat. Setzt man jedoch dem Blut anstelle einer dieser beiden Substanzen zum Beispiel Hydroxylamin zu, so erfolgt die Umsetzung innerhalb weniger Minuten. Dies veranlaßte bereits 1913 HEUBNER zu der Annahme, daß die Oxydation des Hämoglobins über bestimmte Zwischenprodukte des Anilins, beziehungsweise des Nitroanilins erfolgt. Der erste Nachweis von p-Aminophenol nach Aufnahme von Anilin wurde 1877 von SCHMIEDEBERG (zit. bei UEHLEKE [1969]) beim Hund erbracht. Aber erst KIESE [1959] konnte sehr kleine Mengen von Nitrosobenzol im Blut von Hunden, denen Anilin verabreicht worden war, nachweisen.

Die Hauptrolle beim metabolischen Abbau des Anilins und seiner Derivate spielt nach UEHLEKE [1969] die N-Hydroxylierungsreaktion. Dabei ist zu beachten, daß die Geschwindigkeit der N-Hydroxylierung einiger p-substituierter Aniline wesentlich größer ist als die von Anilin (UEHLEKE [1961]). N-Alkylaniline mit kurzen Seitenketten (C_1-C_2) werden nach KIESE u. Mitarb. [1961] ebenfalls schneller als Anilin alkyliert. Aus den Arylhydroxylaminen entstehen durch Weiteroxydation Nitrosoverbindungen. Phenylhydroxylamin, dessen Existenz als Metabolit bereits HEUBNER [1914] vermutete, vermag in vitro in einem Kreisprozeß sehr viele Moleküle Hämoglobin in Erythrozyten zu oxydieren, wenn Sauerstoff

zur Verfügung steht. Durch Flavinenzyme, welche vom NADPH - Nachschub abhängig sind, können die Nitrosoverbindungen wieder zu Hydroxylamin reduzieren. Der NADPH - Nachschub hängt dabei von der Glykolyse ab (BURGER u. Mitarb. [1967], siehe auch Abb. 1).

Nach HEUBNER [1914] wird ein weiteres Abbauprodukt, das p-Aminophenol in Gegenwart von Oxyhämoglobin zu Chinonimin oxydiert, welches das zweiwertige Eisen des Hämoglobins in die dreiwertige Ferristufe, also in das Methämoglobin, überführt. Nitrobenzol und Anilin haben teilweise gleiche Zwischen- und Endprodukte. Die wirksame, methämoglobinbildende Substanz ist auch hier das Chinonimin. Bei Nitrobenzolvergiftung ist außerdem noch das Nitrosophenol an der toxischen Wirkung beteiligt. Dieses "p-Chinon-Prinzip" ist trotz einiger nachgewiesener Reaktionen nach Ansicht von GUTMANN u. Mitarb. [1960] noch nicht restlos abgeklärt. Auch UEHLEKE [1969] nimmt an, daß der eigentliche Mechanismus der Oxydation von Hämoglobin zum Methämoglobin noch nicht bekannt sei.

4. VERSCHIEDENE METHODEN ZUR BESTIMMUNG VON METHÄMOGLOBIN

Zur quantitativen Bestimmung von Methämoglobin stehen außer den beiden von HEILMEYER [1933] und EVANS u. Mitarb. [1958] entwickelten Methoden, deren Zuverlässigkeitskriterien und Eignung für die Routineuntersuchung hier zu untersuchen sind, noch verschiedene andere Verfahren zur Verfügung. So wurde von NICLOUX und FONTES [1924] die Tatsache ausgenutzt, daß Methämoglobin kein Kohlenmonoxid aufnimmt (BERTIN-SANS und MOITESSIER [1891]), jedoch nach Zusatz eines Reduktionsmittels in Hämoglobin übergeht, das bei Gegenwart von Kohlenmonoxid sofort Kohlenoxid-Hämoglobin bildet. NICLOUX und FONTES [1924] arbeiteten noch eine gasanalytische Methode aus, die von VAN SLYKE und HILLER [1929] verbessert wurde. EVELYN u. Mitarb. [1938] sowie HAVEMANN u. Mitarb. [1939] benutzten die Farbänderung des Hämoglobins beim Überführen in das Cyanid zur Bestimmung des Methämoglobins. Diese Verfahren haben sich bei Messungen von Blut mit erhöhtem Methämoglobingehalt als ausreichend erwiesen, nicht jedoch bei der Methämoglobinbestimmung in Normalblut. Eine Verbesserung des Cyanidverfahrens von EVELYN und MALLOY [1938] wurde von LEAHY und SMITH [1960] veröffentlicht. Eine weitere Modifikation dieser Methode wurde von FLEISCH [1959, 1960] angegeben, welcher den Methämoglobingehalt auf Grund von Extinktionsmessungen einer Blutlösung bei 665, 620 und 540 nm bestimmte. HANDELE und ZIJLSTRA [1955] berechneten die Methämoglobinkonzentration mit Hilfe eines Quotienten der Absorption bei 540 / 525 nm und 576 / 525 nm. Dieses Verfahren wurde von MULLER und ZIJLSTRA [1957] nochmals überarbeitet.

NICHOL und MORELL [1968] bestimmten das Methämoglobin in einer Lösung als Ferricarboxyverbindung. Meßgröße ist hier die Absorptionsdifferenz der Ferri- und Ferrocarboxyverbindungen. Verbreitete Anwendung fand die Methode von KIESE [1947], welche von SCHWERT [1961] modifiziert wurde. Hierbei wird die Zunahme der Extinktion einer Blutlösung nach Überführung des Methämoglobins in Kohlenoxid-Hämoglobin gemessen, KIESE [1947] (grüne Kohlenoxidmethode). Von der roten Kohlenoxid-Methode spricht man, wenn die Abnahme der Extinktion bei 630 nm nach Umwandlung von Methämoglobin in Kohlenoxid-Hämoglobin gemessen wird (SCHWERT [1961]).

5. METHÄMOGLOBINBESTIMMUNG NACH HEILMEYER [1933]

5.1. Prinzip der Methode

Der Extinktionsquotient E_{576}/E_{590} kann als Maß für den Methämoglobingehalt dienen.

5.2. Reagenzien

0,05 %ige, wäßrige Ammoniaklösung

10 %ige Kaliumferricyanidlösung

5.3. Arbeitsweise

Zur spektrophotometrischen Methämoglobinbestimmung wird eine Blutverdünnung 1 : 100 mit 0,05 %iger Ammoniaklösung hergestellt. Nach Messung der Extinktionen bei 576 und 590 nm gegen die 0,05 %ige Ammoniaklösung als Leerwert wird der Quotient E_{576}/E_{590} (Q_o) gebildet. Als Kontrollwert dient der Extinktionsquotient für 100 % Methämoglobin (Q_{100}). Dazu wird die gleiche Probe mit 1 Tropfen der 10 %igen Kaliumferricyanidlösung versetzt, welche das Hämoglobin vollständig in Methämoglobin überführt. Die volle Farbentwicklung ist etwa nach 3 Minuten erreicht. Anschließend wird bei den gleichen Wellenlängen gemessen. Da sich in der ammoniakalkalischen Blutverdünnung rasch Methämoglobin bildet, sollte die 1. Messung unmittelbar nach dem Zusetzen der Ammoniaklösung durchgeführt werden.

5.4. Auswertung

Der Methämoglobingehalt kann entsprechend dem errechneten Quotienten der Eichkurve entnommen werden (siehe Abb. 5).

5.5. Zuverlässigkeitskriterien

5.51 Genauigkeit

Zunächst wurde die Reproduzierbarkeit und damit die Genauigkeit der Methode durch Errechnung des Pearson'schen Variabilitätskoeffizienten aus 20 Bestimmungen des gleichen Blutes geprüft.

5.52 Abhängigkeit der Analysenergebnisse von gerinnungshemmenden Zusätzen der Blutproben

Dazu wurden 5 verschiedene Blutproben je einmal mit Fluorid- und mit Oxalatzusatz versehen und sofort gemessen.

5.53 Zeitabhängigkeit

Die Zeitabhängigkeit der Analysenergebnisse wurde auf die Weise untersucht, daß die Messungen derselben 5 Blutproben, wie 5.52, mit Fluorid- bzw. Oxalatzusatz nach 24 Stunden erfolgte.

5.6. Messungen bei einem Normalkollektiv

Um den Q_0 beziehungsweise den Q_{100} -Wert eines "Normalkollektivs" zu erhalten, wurde das Blut von 20 Probanden verwendet, deren durchschnittlicher Hämoglobingehalt zwar leicht erniedrigt ist, jedoch als annähernd normal angesehen werden kann.

5.7. Messungen an Personen mit Anämien

Um zu prüfen, ob sich eine Änderung der Werte bei stark erniedrigtem Hämoglobingehalt ergibt, wurden außerdem noch 25 Blutproben von stark anämischen Probanden herangezogen.

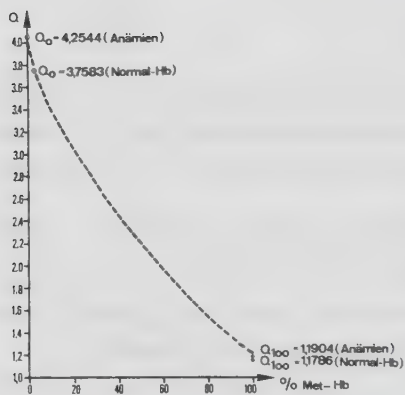


Abb. 5 : Eichkurve für den Quotienten E_{576}/E_{590}
zur Mhb-Bestimmung nach HEILMEYER
[1933]

6. ERGEBNISSE (für die Methode von HEILMEYER [1933])

6.1. Genauigkeit (n=20), siehe Anhang Tab. 1

	Q_0	Q_{100}
$\bar{x}$	4,5946	1,1940
s	0,0565	0,0100
v	0,0122	0,0083

6.2. Abhängigkeit der Analysenergebnisse von gerinnungshemmenden Zusätzen der Blutproben

6.21 Fluoridzusatz (n=5), siehe Anhang Tab. 2a

	Q_0	Q_{100}
$\bar{x}$	3,7286	1,1634
s	0,0754	0,0173
v	0,0202	0,0148

6.22 Oxalatzusatz (n=5), siehe Anhang Tab. 2b

	Q_0	Q_{100}
$\bar{x}$	3,8542	1,1698
s	0,1000	0,0141
v	0,0259	0,0120

6.3. Zeitabhängigkeit, Messung nach 24 Stunden

6.31 Fluoridzusatz (n=5), siehe Anhang Tab. 3a

	Q_0	Q_{100}
$\bar{x}$	3,7108	1,1820
s	0,1702	0,0100
v	0,0458	0,0084

6.32 Oxalatzusatz (n=5), siehe Anhang Tab. 3b

	Q_0	Q_{100}
$\bar{x}$	3,6920	1,1792
s	0,1486	0,0100
v	0,0403	0,0085

6.4. Q_0 - bzw. Q_{100} - Werte des "Normalkollektivs"
(n=20), siehe Anhang Tab. 4

	Q_0	Q_{100}	Hb-Gehalt g/100 ml
$\bar{x}$	3,7583	1,1786	14,3611
s	0,1029	0,0141	1,9194
v	0,0273	0,0119	0,1336

6.5. Q_0 - bzw. Q_{100} - Werte bei Anämien (n=25),
siehe Anhang Tab. 5

	Q_0	Q_{100}	Hb-Gehalt g/100 ml
$\bar{x}$	4,2544	1,1904	9,80720
s	0,3095	0,0447	0,96207
v	0,0727	0,0375	0,09809

7. METHÄMOGLOBINBESTIMMUNG nach EVANS u. Mitarb. [1958]

7.1. Prinzip der Methode

Die prozentuale Lichtdurchlässigkeit bei 630 nm kann als Maß für den Methämoglobingehalt dienen. Zur Erstellung einer Eichkurve ist es erforderlich, das gesamte Hämoglobin durch Kaliumferricyanid in Methämoglobin überzuführen und auch hier die prozentuale Lichtdurchlässigkeit bei 630 nm zu bestimmen.

7.2. Reagenzien

M/60 Phosphatpuffer, pH 6,6

10 %ige Saponinlösung

10 %ige Kaliumferricyanidlösung

7.3. Arbeitsweise

0,1 ml frisch abgenommenes Blut wird in die Spektrophotometerküvette gegeben, in der sich bereits 7 ml des Phosphatpuffers befinden. Die Hämolyse der Erythrozyten wird durch Zugabe von 1 Tropfen Saponinlösung erreicht. Die prozentuale Lichtdurchlässigkeit wird bei 630 nm ($\%T_1$) gegen die Pufferlösung (7 ml) mit 1 Tropfen Saponinlösung als Leerwert gemessen. Durch einen Überschuß an Kaliumferricyanidlösung wird das Hämoglobin in Methämoglobin übergeführt. In ca. 3 Minuten ist die volle Farbentwicklung herbeigeführt. Nach Ablauf der 3 Minuten wird erneut die prozentuale Lichtdurchlässigkeit gegen denselben Leerwert abgelesen ($\%T_2$). Kaliumferricyanidlösung ist im Leerwert nicht erforderlich, da es bei 630 nm nicht absorbiert.

7.4. Auswertung

Von einem gesunden Kollektiv (15-20 Personen) wird der Mittelwert von $\%T_1$ ermittelt. Die Bestimmung des $\%T_2$ - Wertes erfolgt individuell bei der zu untersuchenden Probe. Aus diesen beiden Werten wird eine Eichkurve erstellt. Der prozentuale Methämoglobingehalt kann entsprechend dem bereits vorher gewonnenen, individuellen $\%T_1$ - Wert der ermittelten Eichkurve entnommen werden.

7.5. Zuverlässigkeitskriterien

Die Reproduzierbarkeit und damit die Genauigkeit der Methode wurde durch die Berechnung des Pearson'schen Variabilitätskoeffizienten aus 20 Bestimmungen des gleichen Blutes geprüft.

7.6. Messungen bei einem "Normalkollektiv"

Um den $\%T_1$ - beziehungsweise den $\%T_2$ - Wert eines "Normalkollektivs" zu erhalten, wurden zu den Messungen die Proben von 60 gesunden Personen mit annähernd normalem Hämoglobingehalt herangezogen. 40 von diesen Blutproben wurden nach Rauchern (17 Proben) und Nichtrauchern (23 Proben) eingeteilt.

7.7. Messungen an Personen mit Anämien

Um zu prüfen, ob sich bei erniedrigtem Hämoglobingehalt eine Änderung der Analysenergebnisse ergibt, wurden Blutproben von 123 stark anämischen Patienten verwendet. Diese Proben wurden nach Blutungsanämien (25 Patienten) und sonstigen Anämien (98 Patienten) unterteilt.

8. ERGEBNISSE (für die Methode von EVANS u. Mitarb. [1958])

8.1. Genauigkeit (n=20), siehe Anhang Tab. 6

	% T ₁	% T ₂
$\bar{x}$	91,57500	38,15000
s	0,90721	0,67082
v	0,00990	0,01758

8.2. % T₁- und % T₂-Werte des "Normalkollektivs" (n=60)
siehe Anhang Tab. 7

	% T ₁	% T ₂	Hb-Gehalt g/100 ml
$\bar{x}$	89,8500	37,0389	15,3600
s	2,1243	2,8268	1,8795
v	0,0236	0,0763	0,1223

8.3. % T₁- und % T₂-Werte der Blutungsanämien (n=25),
siehe Anhang Tab. 8

	% T ₁	% T ₂	Hb-Gehalt g/100 ml
$\bar{x}$	92,4000	47,9986	8,0000
s	1,9106	9,2082	1,6722
v	0,0207	0,1918	0,2090

8.4. % T₁- und % T₂-Werte der sonstigen Anämien (n=98),
siehe Anhang Tab. 9

	% T ₁	% T ₂	Hb-Gehalt g/100 ml
$\bar{x}$	91,2412	49,8505	9,5201
s	2,7784	9,2296	1,7790
v	0,0304	0,6695	0,1868

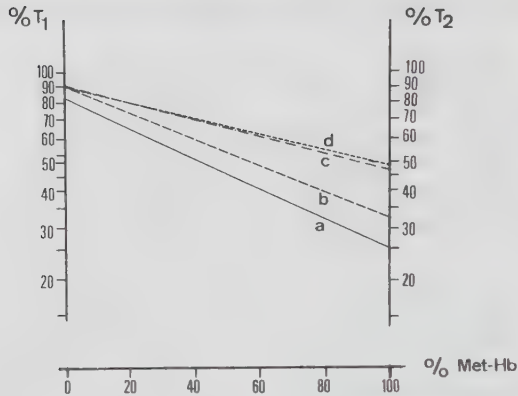


Abb. 6 : Ermittelte Eichkurven:

- a. von EVANS u. Mitarb. [1958] ermittelte Eichkurve eines Normalkollektivs von 15-20 gesunden Personen,
- b. Eichkurve des Normalkollektivs, das in dieser Arbeit verwendet wurde,
- c. Eichkurve der Patienten mit Blutungsanämie,
- d. Eichkurve der Patienten mit sonstigen Anämien,

9. KORRELATIONSFUNKTIONEN
UND REGRESSIONSKOEFFIZIENTEN

Hier wurde die Abhängigkeit der Analysenergebnisse vom Hämoglobingehalt bei beiden Methoden untersucht. Dazu wurden jeweils die entsprechenden Blutproben verwendet.

9.1. Anämien

9.11 Methode nach HEILMEYER [1933],
Anämien, (siehe Anhang Tabelle 5)

	Hb g/100 ml : Q_0	Hb g/100 ml : Q_{100}
n	25,0000	25,0000
$y' = A + Bx$	$3,6822 + 0,0585 x$	$1,2423 + 0,0053 x$
r	0,1829	-0,1170

9.12 Methode nach EVANS u. Mitarb. [1958],
Anämien, (siehe Anhang Tabelle 9, Proben Nr. 74-98)

	Hb g/100 ml : $\%T_1$	Hb g/100 ml : $\%T_2$
n	25,0000	25,0000
$y' = A + Bx$	$84,2871 - 0,8252 x$	$80,3533 - 2,5240 x$
r	-0,4837	-0,5395

9.2. Normalkollektiv

- 9.21 Methode nach HEILMEYER [1933] ,
Normalkollektiv, (siehe Anhang Tabelle 4)

	Hb g/100 ml : Q_0	Hb g/100 ml : Q_{100}
n	20,0000	20,0000
$y' = A + Bx$	$3,5864 + 0,0119 x$	$1,1930 - 0,0010 x$
r	0,2301	-0,1435

- 9.22 Methode nach EVANS u. Mitarb. [1958] ,
Normalkollektiv, (siehe Anhang Tabelle 7, Proben-Nr. 41-60)

	Hb g/100 ml : $\% T_1$	Hb g/100 ml : $\% T_2$
n	20,0000	20,0000
$y' = A + Bx$	$96,2495 - 0,3190 x$	$57,4913 - 1,3911 x$
r	-0,4054	-0,7455

Unter den Verfahren zur Methämoglobinbestimmung zeichnen sich die beiden hier untersuchten Methoden (HEILMEYER [1933], und EVANS u. Mitarb. [1958]) zweifelsohne durch ihre analytische Einfachheit aus. Hier wie dort beträgt der Zeitaufwand für die Einzelanalyse etwa 10 Minuten. Bei gleichzeitiger Bestimmung von 5 Blutproben werden maximal 15 Minuten benötigt. Da für die Messungen nur ein einfaches Photometer benötigt wird, sind beide Methoden hinsichtlich ihres technischen und zeitlichen Aufwandes also durchaus praxisgerecht.

Die Reproduzierbarkeit der Einzelbestimmungen und damit die Genauigkeit der Verfahren wurde durch die Berechnung des Pearson'schen Variabilitätskoeffizienten aus je 20 Messungen des gleichen Blutes geprüft. Bei der Methode nach EVANS u. Mitarb. [1958] ergaben sich: $v_1 = 0,990\%$ für $\%T_1$; $v_2 = 1,758\%$ für $\%T_2$. Bei der Methode nach HEILMEYER [1933] fanden sich: $v_3 = 1,22\%$ für Q_0 ; $v_4 = 0,83\%$ für Q_{100} . Damit sind die hier untersuchten Methoden also auch bezüglich der analytischen Genauigkeit annähernd gleichwertig.

Bei der Methode nach EVANS u. Mitarb. [1958] stellt der $\%T_1$ -Wert eine bei Intoxikationen individuell nicht bestimmbare Größe dar, er muß vorweg in einem Normalkollektiv festgelegt werden. Mit den vorliegenden Untersuchungen sollte überprüft werden, inwieweit sich der $\%T_1$ -Wert, ebenso wie der $\%T_2$ -Wert, vom Hämoglobingehalt als abhängig erweist. Eine Klärung dieser Frage schien umso wichtiger, als eine Anämie ein Sekundärsymptom der Methämoglobinämie ist (HOLSTEIN [1961]). Nach HAMBLIN und MANGELSDORFF [1926] sollte der $\%T_1$ -Wert bei 630 nm maximal um 1 % variieren. Auf Grund der hier vorliegenden Untersuchungen ist die Streubreite des $\%T_1$ -Wertes jedoch erheblich größer. So weichen die Mittelwerte von Gesunden und Anämikern schon um

2,55 % von einander ab. Bei den zugrundeliegenden Einzelwerten ergaben sich sogar Differenzen bis 9 % (siehe Kap. 8, und Anhang Tabellen 7, 8, 9). Für den zur Berechnung des Methämoglobingehaltes gleichfalls notwendigen $\%T_2$ -Wert kommen diese Einflüsse weniger zum Tragen, obwohl die Differenzen der Anämiker zum Normalkollektiv auch hier sehr deutlich sind. Allerdings dürften im Einzelfall diese Unterschiede dadurch eliminiert werden, daß der $\%T_2$ -Wert auch bei pathologischen Methämoglobinwerten bestimmt und für die Auswertung individuell berücksichtigt wird. Diese Messung ist umso notwendiger, als die Abhängigkeit des $\%T_2$ -Wertes vom Hämoglobingehalt mit $r = -0,5395$ (Anämiker) und $r = -0,7455$ (Normalkollektiv) statistisch hochsignifikant ist. Damit kann der Einfluß einer Anämie auf die Messung des Methämoglobins nicht vernachlässigt werden.

Auch bei dem Verfahren nach HEILMEYER [1933] kann eine gewisse Abhängigkeit des errechneten Quotienten Q_o vom Hämoglobingehalt des Blutes nachgewiesen werden (siehe Kap. 10, Anhang Tabellen 4, 5). Die Differenzen der Mittelwerte des Normalkollektivs ($\bar{x} Q_o = 3,7583$) und der Anämiker ($\bar{x} Q_o = 4,2544$) gleichen sich bis zum Punkt Q_{100} nahezu völlig aus (siehe Abb. 5). Dies beweist auch der durchgeführte t-Test: für Q_o ist die Differenz mit $t = -6,8291$ *** signifikant. Für den Bereich Q_{100} kann mit $t = -1,3039$ keine Signifikanz mehr nachgewiesen werden. Im Gegensatz zum Verfahren von EVANS u. Mitarb. [1958] läßt sich hier eine Abhängigkeit des Q_o -Wertes vom Hämoglobingehalt korrelationsanalytisch nicht sichern (siehe Kap. 10): $r = 0,2301$ für das Normalkollektiv und $r = 0,1829$ für die Anämiker. Es dürfte daher berechtigt sein, für die vorliegenden Untersuchungen auf die von HEILMEYER [1933] angegebene Eichkurve zurückzugreifen, deren Form und Verlauf durch vergleichende Messungen mit der von SCHWERT [1961]

t *** : $p < 0,001$

angegebenen Methode bereits früher bestätigt werden konnte (SCHÜTZ [1971]).

Eine Abhängigkeit der Methämoglobinbestimmung vom gerinnungshemmenden Mittel konnte für zwei gerinnungshemmende Substanzen (Natriumfluorid und Natriumoxalat) ausgeschlossen werden (siehe Anhang Tab. 2 a, b). Auch eine Verschiebung der Eichkurve durch eine Messung 24 Stunden nach der Blutentnahme ließ sich nicht objektivieren.

Stellt man unter den besprochenen Gesichtspunkten die beiden Methoden einander gegenüber, so läßt sich sagen, daß die Methode nach HEILMEYER [1933] weniger aufwendig und damit praktikabler ist, da zur Auswertung nicht auf ein Normalkollektiv zurückgegriffen werden braucht.

Als normale Methämoglobinkonzentration des Blutes wurde mit der Methode nach HEILMEYER [1933] ein Mittelwert von 3 % (entsprechend $\bar{x} Q_0 = 2,7583$, Kap. 8) abgelesen. Die leichte Differenz zu dem in der Literatur angegebenen Wert um 1 % (HEUBNER u. Mitarb. [1947], BETKE u. Mitarb. [1952], KÜNZER [1951]) erklärt sich daraus, daß die Eichkurve (siehe Abb. 5) im Normbereich ihre größte Steigerung hat. Dies ist für praktische Belange jedoch bedeutungslos, da wegen der Form der Eichkurve die Genauigkeit mit steigendem Methämoglobingehalt zunimmt.

Für die Gewinnung wirklicher Normwerte sind genauere Methoden erforderlich, die nicht praxisgerecht zu sein brauchen, da sie für eine routinemäßige Überprüfung nicht eingesetzt werden können. Davon abgesehen hat sich aber in der vorliegenden Arbeit insbesondere die Methode von HEILMEYER [1933] zur Bestimmung von Methämoglobin für die praktischen Belange einer Überwachung entsprechend exponierter Personen als durchaus zuverlässig und ausreichend genau erwiesen.

11. ZUSAMMENFASSUNG

Die periodische Überwachung beruflich gegenüber aromatischen Amino- und Nitroverbindungen exponierter Arbeiter ist durch Methämoglobinbestimmungen möglich. Hierzu sind zeiteffektive, zugleich aber auch ausreichend genaue Methoden erforderlich.

In der vorliegenden Arbeit wurden unter diesen Aspekten zwei gebräuchliche Methoden geprüft. Für die Belange der Praxis liefert sowohl das Verfahren von EVANS u. Mitarb. [1958] wie auch das von HEILMEYER [1933] durchaus zuverlässige Ergebnisse. Ein geringer analytischer Mehraufwand bei dem Verfahren nach EVANS u. Mitarb. [1958] läßt die Methode nach HEILMEYER [1933] praxisgerechter erscheinen.

12. LITERATURVERZEICHNIS

Allen, D.W., Jandl, J.H.:

Oxidative hemolysis and precipitation of hemoglobin.
II. Role of thiols in oxidant drug action.

J. Clin. Invest. 40, 454, 1961

Barsotti, M., Vigliani, E.C.:

Bladder lesions from aromatic amines:
statistical considerations and prevention.

Med. Lavoro 40, 129, 1949

Bertin-Sans, H., Moitessier, J.:

Sur la transformation de l'hémoglobine oxycarbonée
en méthémoglobine et sur un nouveau procédé de
recherche de l'oxyde de carbone dans le sang.

Compt. rend. 113, 210, 1891

Betke, K., Rau, H.:

Zur Frage der Neigung der Säuglinge an Methämoglobin-
ämien zu erkranken.

Arch. Kinderheilkd. 145, 195, 1952

Bodansky, O.:

Methemoglobinemia and methemoglobin-producing
compounds.

Pharmacol. Rev. 3, 144, 1951

Burger, A., Wagner, J., Uehleke, H., Götz, E.:

Beeinflussung von Pentosephosphatzycclus und Glykose
in Erythrozyten während der Methämoglobinbildung
durch Phenylhydroxylamin.

Arch. exp. Path. Pharm. 256, 333, 1967

Clark, B.B., Van Loon, E.J., Morrissey, R.W.:

The acute effects of aniline on circulation and blood
of dogs.

J. Pharm. Exp. Therap. 72, 9, 1941

Clark, B.B., Van Loon, E.J.:

The acute effects of hypoxia resulting from methemoglobin produced by aniline.

Fed. Proc. 1, 146, 1942

Clark, B.B., Van Loon, E.J., Morrissey, R.W.:

Acute experimental aniline intoxication.

J. Ind. Hyg. Toxicol. 25, 1, 1943

Cox, W.W., Wendel, W.B.:

The normal rate of methemoglobin in dogs.

J. Biochem. 143, 331, 1938

David, A., Srobová, J., Hykeš, P., Wagner, J.:

Biochemische Befunde bei der akuten Vergiftung mit Nitrobenzol bei Menschen.

Fol. haematol. 83, 532, 1965

Di Maio, G.:

Tumors and precancerous lesions of the bladder due to amines or nitroderivates.

Arch. ital. urol. 14, 283, 1937

Evans, E.E.:

Causative agents and protective measurements in aniline tumors.

J. Urol. 38, 212, 1937

Evans, E.E., Charsha, R.C., Linch, A.L., Penns Grove, N.J.:

Evaluation of chemical cyanosis through improved techniques for hemoglobin analysis.

Arch. Ind. Health 98, 422, 1958

Evelyn, A.K., Malloy, H.A.:

Microdetermination of oxyhemoglobin, methemoglobin and sulfhemoglobin in a single sample of blood.

J. biol. Chem. 126, 655, 1938

Ferguson, R.S., Gehrman, G.H., Gay, D.M., Anderson, L.W., Washburn, V.D.:

Symposium on aniline tumor of the bladder.

J. Urol. 31, 121, 1934

Ferguson, R.S.:

Clinical significance an aniline tumor.

J. Urol. 38, 243, 1937

Fleisch, H.:

Détermination quantitative de la méthémoglobine et de la méthémalbumine dans le sang.

Helv. physiol. Acta 17, 318, 1959

Fleisch, H.:

Mesure de l'hémolyse par la détermination dans le plasma de l'hémoglobine, la méthémalbumine et leurs dérivés.

Helv. med. Acta 27, 383, 1960

Gay, D.M.:

Pathology of aniline tumor of the bladder.

J. Urol. 38, 221, 1937

Glassmann, J.M., Meigs, J.M.:

Benzidine (4,4' diaminobiphenyl) and substituted benzidines: a microdeterminal screening technic for estimating levels of industrial exposure from urine and air samples.

Arch. Ind. Hyg. 4, 519, 1951

Gley, P.:

Action of aniline derivates: formation of methemoglobinemia.

Bull. Acad. méd. (Paris) 118, 377, 1937

Goldblatt, M.:

Occupational cancer of bladder.

Brit. Med. Bull. 4, 405, 1947

Gutmann, H.R., Nagasawa, H.T.:

The oxidation of o-aminophenols by cytochrome c and cytochrome oxidase.

J. biol. Chem. 235, 3466, 1960

Hamblin, D.O., Mangelsdorff, A.F.:

Methemoglobinemia and its measurements.

J. Ind. Hyg. Toxic. 7, 125, 1926

Handelé, M.J., Zijlstra, W.C.:

Spectrophotometric determination of methemoglobin in human blood.

Proc. Kon. Ned. Akad. Wetensch. 58, 652, 1955

Hauschild, F.:

Die Wirkung des Katalysins (Thionin) bei der Methämoglobinvergiftung.

Arch. Exp. Path. Pharm. 184, 80, 1936

Havemann, R., Jung, F., von Issekutz, B.:

Die Bestimmung von Methämoglobin im Blute mit dem lichtelektrischen Kolorimeter.

Biochem. Z. 331, 116, 1939

Heilmeyer, L.:

Medizinische Spektrophotometrie.

Jena: G. Fischer, p. 88, 1933

Heubner, W.:

Studien über Methämoglobinbildung.

Arch. Exp. Path. Pharm. 72, 241, 1913

Heubner, W.:

Über das Wesen der akuten Nitrobenzol- und Anilinvergiftung.

Zbl. Gewerbehyg. 2, 409, 1914

Heubner, W., Schwedtke:

Versuche zur Theorie der Methämoglobinbildung durch Anilin.

Arch. Exp. Path. Pharm. 184, 80, 1936

Heubner, W., Kiese, M., Stuhlmann, M., Schwartzkopff-Jung, W.:

Der Hämiglobingehalt des normalen Blutes.

Arch. Exp. Path. Pharm. 204, 313, 1947

Heubner, W.:

Katalytische Wandlungen am Blutfarbstoff.

Abh. Dtsch. Akad. d. Wissensch. Nr. 2

Berlin: Akademieverlag 1948

Holstein, E.:

Erkrankungen durch aromatische Nitro- und Aminokörper

Handbuch der gesamten Arbeitsmedizin

Berlin - München - Wien: Urban & Schwarzenberg,
p. 440, 1961

Hoschek, R., Fritz, W.:

Taschenbuch für medizinischen Arbeitsschutz und die
werksärztliche Praxis.

Stuttgart: F. Enke, p. 165, 1964

Hueper, W.C.:

"Aniline tumors" of the bladder.

Arch. Path. 25, 856, 1938

Hueper, W.C.:

Clinical aspects of occupational cancer.

Occ. Med. 5, 152, 1948

Jackson, H., Tompson, R.:

The reaction of hemoglobin and some of its derivatives with p-jodophenylhydroxylamine and p-jodonitrobenzene.

Bioch. J. 57, 619, 1954

Kiese, M.:

Empfindliche photometrische Verfahren zur Bestimmung von Hämoglobin und Hämoglobin.

Arch. Exp. Path. Pharm. 204, 190, 1947

Kiese, M.:

Oxydation von Anilin zu Nitrosobenzol im Hunde.

Arch. Exp. Path. Pharm. 235, 354, 1959

Kiese, M., Uehleke, H.:

Der Ort der N-Oxydation des Anilins im höheren Tier.

Arch. Exp. Path. Pharm. 242, 117, 1961

Kiese, M., Uehleke, H.:

N-Oxydation von N-alkylierten Aminen durch isolierte Organe, Zellen und Zellbestandteile.

Arch. Exp. Path. Pharm. 241, 150, 1961

Koelsch, F.:

Über den Nachweis des Dinitrobenzols in Harn, Blut und Organen.

Zbl. Gewerbehyg. 6, 195, 1918

Künzer, W., Savelsberg, W.:

Der Hämiglobingehalt des kindlichen Blutes.

Klin. Wschr. 29, 648, 1951

Kuchenbecker, A.:

Über den Nachweis aromatischer Amidverbindungen.

Zbl. Gewerbehyg. 8, 68, 1920

Leahy, T., Smith, R.:

Notes on methemoglobin determination.

Clin. Chem. 6, 148, 1960

Lehmann, K.B.:

Studien über die Wirkung der Chloraniline und Chlortoluidine und des salzsauren 5-Chlor-2-Toluidins.

Arch. Hyg. Bakt. 110, 12, 1933

Moeschlin, S.:

Klinik und Therapie der Vergiftungen.

Stuttgart: G. Thieme 1964, p. 385

Muller, A.:

Experiences with bladder changes to amines in the industrial district of Basel.

Z. Urol. Chir. 36, 139, 1933

Müller, C.J., Zijlstra, W.G.:

Weitere Untersuchungen zur spektrophotometrischen Methämoglobinbestimmung.

Klin. Wschr. 35, 356, 1957

Nichol, A.W., Morell, D.B.:

Spectrophotometric determination on mixtures of sulphhemoglobin and methemoglobin in blood.

Clin. Chim. Acta (Amsterdam) 22, 157, 1968

Nicloux, M., Fontés, G.:

Sur quelques modes de formation de la méthémoglobine et sur dosage.

Bull. Soc. Chim. Biol. 6, 728, 1924

Rapoport, S.M.:

Medizinische Biochemie.

Berlin: VEB Verlag, Volk und Gesundheit 1965, p. 108, 602

Rejsek, K.:

M-dinitrobenzene poisoning. Mobilisation by alcohol and sunlight.

Act. Med. Scand. 127, 179, 1947

Roche, J.:

Sur l'action physiologique de la méthémoglobinisation du sang.

Internat. Pharmacodyn. Ther. 37, 358, 1930

Schütz, W.:

Institut für Rechtsmedizin
der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg.

Mündliche Mitteilung 1971

Schwedtke, G.:

Studien über Methämoglobinbildung. VIII.
Mitteilung zur Theorie der Methämoglobinbildung durch Anilin.

Arch. Exp. Path. Pharm. 188, 121, 1937

Schwerd, W.:

Der rote Blutfarbstoff und seine wichtigsten Derivate.

Römhild-Lübeck: Verlag Max Schmidt, 1961, p. 73 ff

Slyke, D.D. van, Hiller, A.:

Gasometric determination of methemoglobin.

J. biol. Chem. 84, 205, 1929

Uehleke, H.:

Relations between structure, velocity of biological
N-hydroxylation and toxicity of aromatic amines.

Proc. I. Intern. Pharmacol. Meeting

(Stockholm) 6, 31, 1961

Uehleke, H.:

Toxikologische Aspekte der N-Hydroxylierung
aromatischer Amine.

Arch. Exp. Path. Pharm. 263, 106, 1969

Wagner, J., David, A., Srobovã, J.:

Glycolysis and GSH content in erythrocytes in
the presence of methemoglobin-forming substances
in vitro.

Fol. Haemat. 78, 661, 1962

Waldmann, R.K., Krouse, L.A.:

A Rapid Routine Method for Determination of
Paranitrophenol in Urine.

Occ. Health, Vol. 12, No. 2, 1952

Winkler, O.:

Nachweise von Benzidin, Tolidin, Dianisidin bzw.
ihrer Monoacetylderivate in Harn.

Zbl. Arbeitsmed. 9, 140, 1959

Wolfe, H.D.:

Routine cytoscopic examination as a control
measure in a aniline tumor of the bladder.

J. Urol. 38, 216, 1937

A N H A N G

13. ANHANG

Tabelle 1

Probe	E ₅₇₆	E ₅₉₀	Q _O	E ₅₇₆	E ₅₉₀	Q ₁₀₀
1	1,050	0,225	4,666	0,620	0,520	1,192
2	1,050	0,228	4,605	0,620	0,525	1,181
3	1,050	0,225	4,666	0,620	0,520	1,192
4	1,020	0,225	4,533	0,600	0,500	1,200
5	1,030	0,225	4,577	0,630	0,525	1,200
6	1,055	0,230	4,589	0,610	0,510	1,196
7	1,055	0,230	4,587	0,630	0,525	1,200
8	1,050	0,225	4,666	0,620	0,520	1,192
9	1,050	0,235	4,468	0,620	0,520	1,192
10	1,050	0,225	4,666	0,620	0,520	1,192
11	1,050	0,230	4,565	0,623	0,525	1,186
12	1,050	0,225	4,666	0,610	0,510	1,196
13	1,055	0,230	4,587	0,615	0,515	1,194
14	1,050	0,225	4,666	0,620	0,520	1,192
15	1,030	0,225	4,577	0,620	0,520	1,192
16	1,030	0,225	4,577	0,620	0,520	1,192
17	1,030	0,225	4,577	0,630	0,530	1,189
18	1,030	0,225	4,577	0,630	0,530	1,189
19	0,990	0,220	4,500	0,625	0,520	1,202
20	1,030	0,225	4,577	0,630	0,520	1,212

Tabelle 2a

Probe	E ₅₇₆	E ₅₉₀	Q ₀	E ₅₇₆	E ₅₉₀	Q ₁₀₀
1	0,950	0,260	3,654	0,688	0,590	1,166
2	0,950	0,255	3,654	0,680	0,590	1,153
3	0,950	0,255	3,725	0,670	0,585	1,146
4	0,915	0,240	3,813	0,665	0,560	1,188
5	0,900	0,237	3,797	0,640	0,550	1,164

Tabelle 2b

Probe	E ₅₇₆	E ₅₉₀	Q ₀	E ₅₇₆	E ₅₉₀	Q ₁₀₀
1	0,940	0,250	3,760	0,690	0,590	1,169
2	0,940	0,250	3,760	0,670	0,580	1,158
3	0,940	0,245	3,837	0,660	0,570	1,158
4	0,905	0,230	3,935	0,660	0,550	1,200
5	0,900	0,237	3,797	0,640	0,550	1,164

Tabelle 3a

Probe	E ₅₇₆	E ₅₉₀	Q ₀	E ₅₇₆	E ₅₉₀	Q ₁₀₀
1	1,100	0,275	4,000	0,710	0,600	1,183
2	0,955	0,260	3,673	0,660	0,560	1,179
3	0,960	0,265	3,623	0,660	0,550	1,200
4	0,925	0,260	3,558	0,630	0,535	1,178
5	0,925	0,250	3,700	0,620	0,530	1,170

Tabelle 3b

Probe	E ₅₇₆	E ₅₉₀	Q ₀	E ₅₇₆	E ₅₉₀	Q ₁₀₀
1	1,000	0,255	3,922	0,690	0,590	1,167
2	0,945	0,265	3,567	0,690	0,590	1,167
3	0,960	0,260	3,692	0,670	0,565	1,186
4	0,959	0,255	3,549	0,620	0,520	1,192
5	0,920	0,250	3,680	0,625	0,530	1,179

Tabelle 4

Probe	E ₅₇₆	E ₅₉₀	Q ₀	E ₅₇₆	E ₅₉₀	Q ₁₀₀	Hb g/100 ml
1	0,990	0,260	3,807	0,690	0,590	1,169	17,5
2	0,880	0,243	3,621	0,610	0,520	1,173	13,9
3	0,900	0,235	3,829	0,640	0,540	1,175	14,3
4	0,960	0,265	3,622	0,645	0,545	1,183	16,1
5	1,050	0,275	3,818	0,700	0,590	1,186	17,5
6	0,960	0,260	3,692	0,620	0,520	1,192	15,9
7	1,050	0,275	3,818	0,540	0,460	1,173	13,2
8	0,960	0,260	3,692	0,520	0,430	1,209	13,0
9	0,900	0,235	3,829	0,450	0,375	1,200	11,1
10	0,870	0,225	3,530	0,530	0,450	1,177	11,0
11	0,820	0,215	3,813	0,550	0,475	1,157	12,7
12	0,880	0,230	3,826	0,650	0,540	1,203	16,2
13	0,880	0,230	3,826	0,690	0,590	1,169	12,0
14	1,070	0,275	3,890	0,680	0,580	1,172	14,5
15	0,915	0,235	3,893	0,688	0,590	1,166	15,0
16	1,050	0,275	3,818	0,680	0,590	1,152	17,7
17	0,950	0,260	3,653	0,670	0,575	1,165	14,2
18	0,950	0,260	3,633	0,665	0,560	1,187	14,2
19	0,950	0,255	3,725	0,640	0,540	1,185	14,0
20	0,915	0,240	3,812	0,690	0,590	1,169	15,0

Tabelle 5

Probe	E ₅₇₆	E ₅₉₀	Q ₀	E ₅₇₆	E ₅₉₀	Q ₁₀₀	Hb g/100 ml
1	0,580	0,120	4,833	0,370	0,300	1,233	9,60
2	0,610	0,135	4,519	0,370	0,300	1,233	10,08
3	0,660	0,150	4,400	0,425	0,355	1,197	10,56
4	0,500	0,120	4,166	0,310	0,250	1,124	9,28
5	0,505	0,120	4,208	0,315	0,255	1,235	9,28
6	0,540	0,125	4,320	0,350	0,285	1,228	9,66
7	0,680	0,150	4,533	0,400	0,335	1,194	9,76
8	0,550	0,130	4,231	0,345	0,275	1,255	9,66
9	0,570	0,130	4,384	0,350	0,275	1,273	9,76
10	0,580	0,140	4,143	0,350	0,290	1,207	9,60
11	0,660	0,140	4,174	0,400	0,325	1,231	10,56
12	0,680	0,160	4,250	0,400	0,335	1,194	9,76
13	0,680	0,150	4,533	0,395	0,325	1,215	10,98
14	0,600	0,135	4,444	0,375	0,330	1,136	10,08
15	0,700	0,175	4,000	0,355	0,320	1,109	9,92
16	0,620	0,150	4,133	0,375	0,330	1,136	9,76
17	0,600	0,130	4,615	0,300	0,260	1,154	10,08
18	0,670	0,150	4,466	0,400	0,335	1,194	10,56
19	0,400	0,100	4,000	0,285	0,235	1,213	5,76
20	0,580	0,135	4,296	0,305	0,255	1,196	9,60
21	0,580	0,135	4,296	0,305	0,255	1,196	9,60
22	0,570	0,125	4,560	0,325	0,275	1,182	10,56
23	0,680	0,125	4,560	0,325	0,275	1,182	10,56
24	0,700	0,195	3,590	0,395	0,345	1,145	9,92
25	0,700	0,195	3,590	0,430	0,380	1,132	9,92

Tabelle 6

Probe	% T ₁	% T ₂
1	91,0	38,0
2	91,0	38,0
3	91,5	38,0
4	89,0	38,0
5	91,0	38,0
6	91,0	39,0
7	91,0	39,0
8	92,0	39,0
9	92,0	37,0
10	93,0	39,0
11	92,0	39,0
12	92,0	38,0
13	93,0	37,0
14	91,0	37,0
15	92,0	38,0
16	93,0	39,0
17	91,5	38,0
18	91,5	38,0
19	91,5	39,0
20	91,5	38,0

Tabelle 7 (17 Raucher)

Probe	Hb g/100 ml	% T ₁	% T ₂
1	16,05	85,0	34,5
2	17,1	86,5	37,2
3	14,9	87,5	36,2
4	19,3	88,0	34,5
5	17,3	90,3	39,0
6	19,3	87,0	32,5
7	15,2	90,2	38,5
8	15,3	87,5	35,5
9	13,6	87,5	35,5
10	17,1	88,5	34,0
11	17,7	90,2	38,0
12	14,9	89,4	36,5
13	17,3	90,2	37,2
14	12,7	90,2	39,0
15	14,7	90,2	38,0
16	13,7	89,4	38,0
17	14,7	91,5	35,5

Tabelle 7 (23 Nichtraucher)

Probe	Hb g/100 ml	% T ₁	% T ₂
18	16,7	88,0	35,5
19	14,8	86,5	39,0
20	18,3	87,0	38,5
21	15,7	89,4	34,5
22	16,05	89,4	38,0
23	14,5	89,9	39,0
24	16,4	85,0	35,5
25	14,7	89,4	36,5
26	17,2	87,0	35,5
27	14,9	91,5	43,2
28	16,3	89,4	33,2
29	15,5	89,4	37,2
30	12,9	88,0	35,2
31	17,3	88,0	34,2
32	18,5	89,4	42,1
33	15,1	88,0	34,0
34	14,1	89,4	36,2
35	15,5	92,5	39,0
36	16,05	88,0	38,0
37	17,7	91,5	36,2
38	12,8	91,5	40,5
39	14,7	89,4	35,5
40	16,05	91,5	36,2

Tabelle 7

Probe	Hb g/100 ml	% T ₁	% T ₂
41	17,5	91,9	34,5
42	13,9	97,0	41,0
43	14,3	92,0	37,0
44	16,1	90,5	33,8
45	15,5	90,0	33,0
46	15,9	90,5	37,5
47	13,2	91,5	38,0
48	13,0	91,0	42,5
49	11,1	92,0	47,0
50	11,0	92,5	42,0
51	12,7	91,0	37,0
52	16,2	90,5	37,5
53	12,0	92,0	39,0
54	14,5	92,5	40,0
55	15,0	92,0	34,5
56	17,7	89,0	33,5
57	14,2	92,0	33,0
58	14,2	92,0	35,5
59	14,0	91,0	37,0
60	15,0	91,9	34,5

Tabelle 8

Probe	Hb g/100 ml	% T ₁	% T ₂
1	8,1	94,0	61,0
2	5,7	94,0	61,0
3	5,2	89,4	60,4
4	6,6	91,5	59,7
5	9,6	92,0	49,0
6	8,0	90,5	52,2
7	8,4	92,5	50,2
8	10,05	95,0	44,8
9	6,0	97,5	67,8
10	6,35	91,5	66,9
11	7,8	90,0	52,2
12	7,45	90,0	56,2
13	7,55	93,7	56,2
14	8,45	92,5	56,1
15	7,8	92,3	51,2
16	9,65	92,3	61,7
17	10,0	91,2	25,7
18	12,65	89,7	22,2
19	9,0	93,7	50,7
20	8,55	93,2	49,9
21	7,0	92,5	55,3
22	7,9	94,5	53,2
23	9,2	92,2	47,9
24	7,2	92,2	56,0
25	5,8	94,5	61,3

Tabelle 9

Probe	Hb g/100 ml	% T ₁	% T ₂
1	9,2	88,3	50,2
2	6,2	94,5	63,2
3	8,6	90,3	50,2
4	7,05	90,3	53,1
5	10,4	91,3	59,7
6	12,7	90,3	44,7
7	9,3	91,5	50,2
8	8,6	91,5	53,7
9	11,45	89,5	43,8
10	8,0	84,0	49,1
11	7,2	-	-
12	11,85	94,5	47,2
13	13,7	93,5	50,2
14	5,8	90,3	51,3
15	10,2	90,3	43,5
16	11,65	91,5	45,8
17	6,55	94,5	63,2
18	7,0	91,3	55,0
19	8,2	88,5	47,4
20	6,95	89,5	39,8
21	11,2	91,5	57,0
22	9,9	91,5	52,6

Tabelle 9

Probe	Hb g/100 ml	% T ₁	% T ₂
23	9,45	90,5	35,2
24	9,65	91,5	52,0
25	7,75	89,3	54,3
26	11,2	91,5	48,2
27	11,05	91,4	46,9
28	9,45	91,5	40,8
29	8,2	92,2	53,2
30	9,65	89,3	50,2
31	9,65	91,5	50,2
32	4,8	92,2	50,2
33	8,65	88,2	56,3
34	7,5	88,0	32,1
35	12,7	91,0	37,7
36	8,4	94,3	31,7
37	9,7	93,2	52,2
38	7,9	92,5	55,9
39	9,25	91,5	41,7
40	7,6	89,0	51,8
41	8,8	88,2	46,9
42	8,2	88,2	59,6
43	12,05	87,0	-
44	9,45	91,0	44,8

Tabelle 9

Probe	Hb g/100 ml	% T ₁	% T ₂
45	6,6	90,5	50,8
46	10,3	88,2	43,5
47	9,25	89,2	45,6
48	8,2	88,2	52,8
49	8,2	80,5	48,5
50	9,45	88,2	45,9
51	10,65	90,2	40,3
52	10,05	93,5	46,3
53	10,65	90,0	40,3
54	9,0	90,2	32,1
55	8,0	88,2	-
56	6,4	92,2	68,5
57	11,65	99,5	44,5
58	8,8	90,3	44,5
59	9,85	91,5	41,1
60	12,25	88,0	35,0
61	13,05	87,2	23,2
62	7,8	84,2	46,2
63	8,65	92,2	53,2
64	8,25	95,0	59,7
65	7,40	94,5	58,7
66	11,9	94,6	49,9
67	6,2	96,6	59,3

Tabelle 9

Probe	Hb g/100 ml	% T ₁	% T ₂
68	10,6	89,2	24,0
69	12,85	91,2	44,7
70	12,09	94,5	45,8
71	8,85	96,9	61,8
72	13,85	90,2	41,8
73	11,25	95,0	45,2
74	9,60	92,0	55,0
75	10,08	91,0	50,0
76	10,56	94,0	52,0
77	9,28	91,0	51,0
78	9,28	93,0	55,0
79	9,66	93,0	55,0
80	9,76	91,0	54,0
81	9,66	91,0	65,0
82	9,76	93,0	60,0
83	9,60	94,0	58,0
84	10,56	91,5	54,0
85	9,76	92,0	57,0
86	10,98	95,0	57,0
87	10,08	95,0	55,0
88	9,92	93,0	53,0
89	9,76	90,0	55,0

Tabelle 9

Probe	Hb g/100 ml	% T ₁	% T ₂
90	10,08	94,0	58,0
91	10,56	93,0	60,0
92	5,76	90,0	67,0
93	9,60	89,0	59,0
94	9,60	92,0	58,0
95	10,56	95,0	53,0
96	10,88	93,0	50,0
97	9,92	93,0	51,0
98	9,92	91,0	48,0

Herrn Professor Dr. med. H. V a l e n t i n gilt mein besonderer Dank. Durch seine Unterstützung war es mir möglich, vorliegende Arbeit im Institut für Arbeits- und Sozialmedizin durchzuführen.

Herrn Professor Dr. med. G. L e h n e r t danke ich für die Überlassung des Themas.

Herrn Dr. med. D. S z a d k o w s k i und Herrn Chem. Ing. (grad.) K. -H. S c h a l l e r sei für die vielseitigen Anregungen bei der Durchführung der Arbeit herzlich gedankt.

Dem Oberarzt der Chirurgischen Klinik, Herrn Priv.-Doz. Dr. med. R. F l e s c h, danke ich für die Bereitstellung der Blutproben von Patienten mit Anämien.

LEBENS LAUF

Am 13. September 1947 wurde ich, Johanna Eschstruth, als erstes Kind des Goldschmiedes Peter Blachian und seiner Ehefrau Johanna Blachian, geb. Gade, in Neuötting am Inn geboren.

1952 wurde ich in die Volksschule Neuötting eingeschult und trat am 9. September 1957 in das Realgymnasium mit Landschulheim Schondorf am Ammersee über. 1960 wechselte ich an das Humanistische Gymnasium in Pfarrkirchen und legte dort am 21. Juni 1967 die Reifeprüfung ab.

Im Wintersemester 1967/68 begann ich mit dem Studium der Zahnmedizin an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, wo ich nach fünf Semestern die Zahnärztliche Vorprüfung bestand.

Am 16. Oktober 1970 heiratete ich Dr.med. Rolf Eschstruth.

Im Oktober 1972 legte ich an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg mein Zahnmedizinisches Staatsexamen ab.

Offsetdruck-Fotodruck

J. Hogl, 8520 Erlangen Hauptstr. 109, (Nähe Martin-Luther-Platz) Tel. 22990